

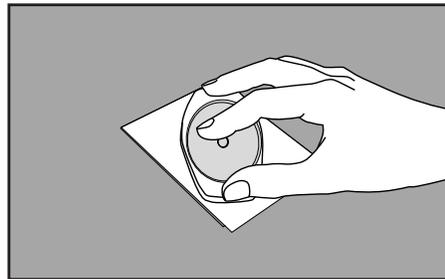
3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Coliformes

Recomendaciones de uso

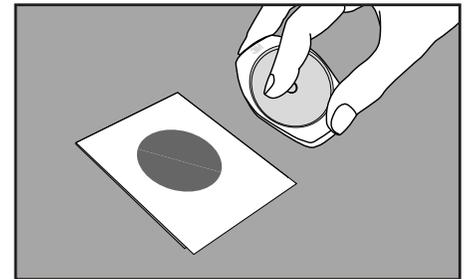
Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.



10 Con el lado **liso** hacia abajo, coloque el dispensador en la película superior sobre el inóculo.

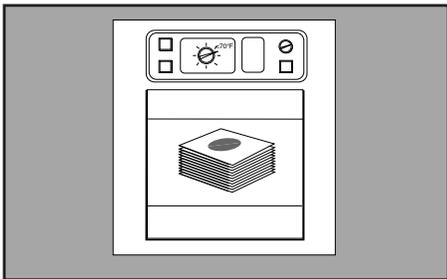


11 Presione **suavemente** el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. **No** gire ni deslice el dispensador.



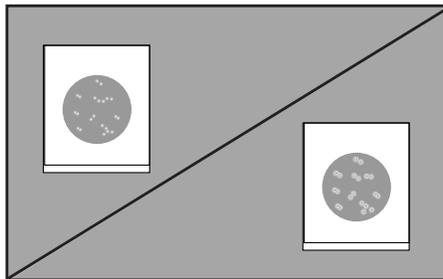
12 Levante el dispensador. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

Incubación

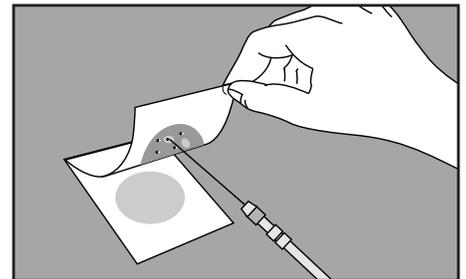


13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación



14 Las Placas Petrifilm pueden ser leídas con luz indirecta en un contador de colonias estándar o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados, remítase a la Guía de interpretación.



15 Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

- **AOAC método oficial 2000.15**
Incuba las placas por más de 24 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$
- **AFNOR método validado 3M 01/5-03/97A**
Resultado a las 14 h (comparado con Método VRBL a 30°C)
(incubar a 30°C para productos procesados porcinos)
- **AFNOR método validado 3M 01/5-03/97B**
Resultado a las 24 h (comparado con Método VRBL a 30°C)
(incubar a 30°C para productos procesados porcinos)
- **AFNOR método validado 3M 01/5-03/97C**
Resultado a las 24 h (comparado con Método MPN)

Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Food Safety en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: www.3M.com/foodsafety
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

3M

Food Safety
3M México
Av. Santa Fe No. 190, Col, Santa Fe, Del.
Álvaro Obregón
C.P. 01210 México D.F.
5270-0400 ext 0443 o 1272
foodsafetymx@mmm.com

3M.com/foodsafety

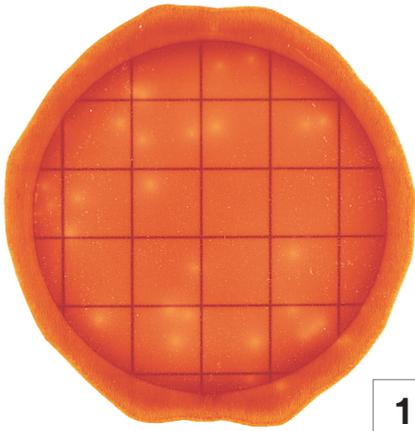
3M, Ciencia. Aplicada a la Vida. y Petrifilm son marcas registradas de 3M.
Por favor recicle. © 3M, 2017.
Todos los derechos reservados.

Placas Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento Rápido de Coliformes (Rapid Coliform Count, RCC) definido por tres de los métodos para enumeración de coliformes más usados globalmente. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Food Safety más cercano.

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos Gram-negativos que producen ácido y gas durante la fermentación de la lactosa. Mientras las colonias coliformes crecen en la Placa Petrifilm RCC y producen ácido, el indicador de pH en la placa cambia de naranja-rojizo a amarillo, dando una señal presuntiva de coliformes. El gas atrapado alrededor de las colonias coliformes confirma su presencia.

La ISO define a los coliformes por su capacidad para crecer en un método específico, en un medio selectivo. **El método ISO 4832**, que enumera a los coliformes por la técnica de recuento de colonias, define a los coliformes por el tamaño de la colonia y por la producción de ácido en agar VBR con lactosa (VBRL). En las Placas Petrifilm RCC, estos coliformes productores de ácido son identificados por zonas ácidas amarillas o colonias rojas con o sin gas. **El método ISO 4831**, que enumera a los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define a los coliformes por su capacidad para crecer y producir gas de la lactosa en un caldo selectivo. En las Placas Petrifilm RCC, estos coliformes están identificados por las colonias rojas asociadas con gas. La **AFNOR** ha validado las Placas Petrifilm RCC como un método comparable al ISO 4831 y el ISO 4832.



1

A las 6 horas de incubación

Recuento de coliformes por zonas ácidas (6-14 horas)

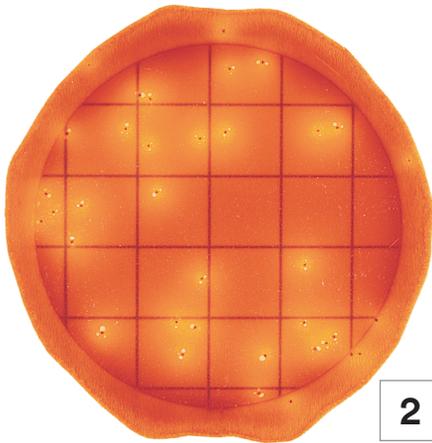
Las zonas ácidas amarillas pueden comenzar a aparecer a las 6 horas. Si los coliformes están presentes, las zonas amarillas aparecerán y se difundirán durante la incubación.

Interpretación cuando se compara con los métodos AOAC/BAM:

- Cunte las zonas ácidas amarillas, con o sin centros rojos, como coliformes presuntivos.

Interpretación al comparar con ISO 4832 (VBRL):

- Cunte las zonas ácidas amarillas, con o sin centros rojos, como coliformes por punto.
- Resultados finales a las 14 horas (según validación AFNOR).



2

A las 14 horas de incubación

Recuento de colonias de coliformes (8-24 horas)

Las colonias rojas, con o sin gas, pueden comenzar a aparecer a las 8 horas y seguir creciendo durante la incubación.

Interpretación cuando se compara con AOAC/ BAM

- Cunte las colonias rojas asociadas con gas como coliformes confirmados, siempre que aparezcan.

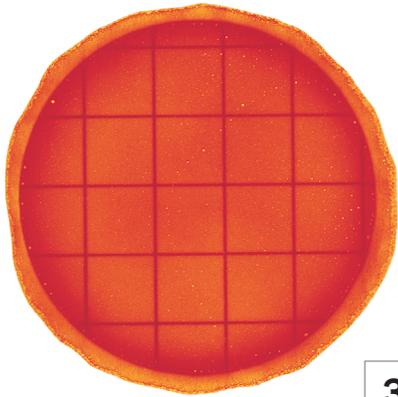
Interpretación al comparar con ISO 4831 (NMP)

- Cunte las colonias rojas con gas como coliformes.
- Resultados finales a las 24 ± 2 horas (validación AFNOR), excepto para procesar carne de cerdo.

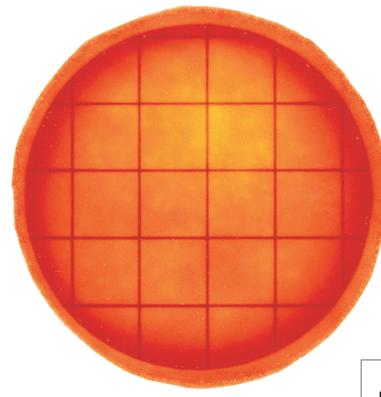
Interpretación al comparar con ISO 4832 (VBRL)

- Cunte todas las colonias rojas, con o sin gas, como coliformes.
- Resultados finales a las 24 ± 2 horas (validación AFNOR).

La lectura presuntiva de crecimiento bacteriano en las Placas Petrifilm para Recuento Rápido de Coliformes (medido por la producción de ácido láctico y gas) depende del tipo de bacteria, su estado metabólico y su concentración.



3 Recuento de coliformes = 0



4 Recuento estimado de coliformes = MNPC (Muy Numeroso Para Contar) Recuento actual > a 10^5

Recuento de zonas ácidas (6-14 horas)

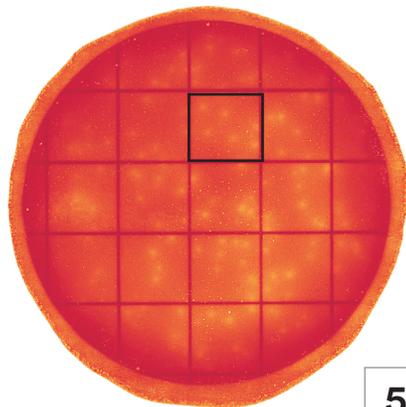
Observe los cambios del gel en las figuras 3 a 10. Mientras los coliformes producen ácido, el color del gel cambia de naranja-rojizo a amarillo-anaranjado.

La alta concentración de coliformes (>1000 UFC/placa) puede causar que el área total de crecimiento se torne amarilla después de 4 horas de incubación. Ver la figura 4. Cuando esto ocurre, se puede necesitar una dilución mayor de la muestra para un recuento más preciso.

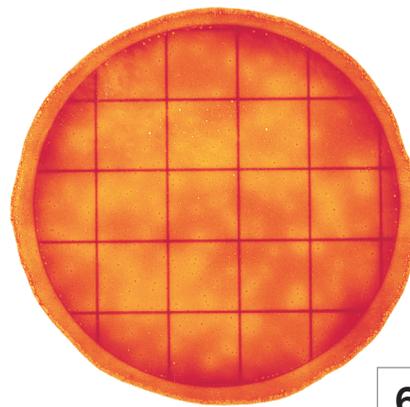
Algunos coliformes producen grandes cantidades de ácido. Para estos organismos, se puede dar una fusión de las zonas ácidas con tan solo 20 colonias por placa. Se pueden hacer estimaciones en placas que contengan más de 50 zonas ácidas claras.

El área de crecimiento circular en una Placa Petrifilm RCC es de aproximadamente 20 cm². Pueden realizarse cálculos estimados contando el número de zonas ácidas en uno o más cuadros representativos, y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio de zonas ácidas por 20 para obtener el recuento total por placa. En la figura 5 hay seis coliformes presuntivos (zonas ácidas) en el cuadro marcado.

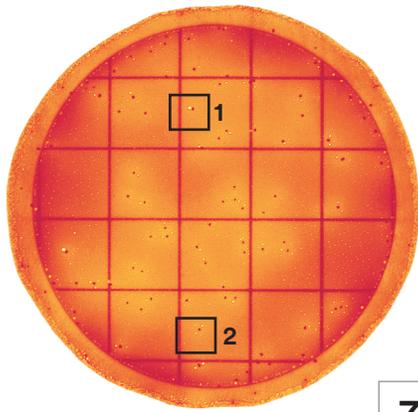
Las colonias rojas comenzarán a aparecer dentro de las zonas ácidas mientras los coliformes siguen creciendo. Ver figura 6.



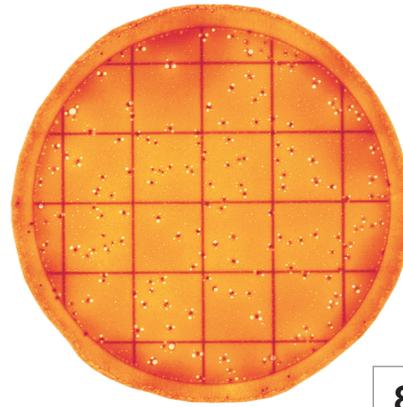
5 Recuento estimado de coliformes = 120



6 Recuento estimado de coliformes = 280



7 Recuento de coliformes = 64



8 Recuento de coliformes = 164

Recuento de colonias y gas (8-24 horas)

Las figuras 7 y 8 muestran los resultados de la misma concentración de diferentes organismos, incubados durante el mismo periodo de tiempo. Colonias rojas con zonas ácidas distintas aparecen en ambas placas. Los organismos de la figura 8 parecen fermentar la lactosa para producir gas más rápidamente que los de la figura 7.

Cuente las colonias, con o sin gas, dependiendo del método que esté siguiendo. Una colonia es asociada con burbujas de gas si están en el diámetro de una colonia, alejadas o en el anillo alrededor de la colonia. Ver los círculos 1 y 2 en la figura 7.

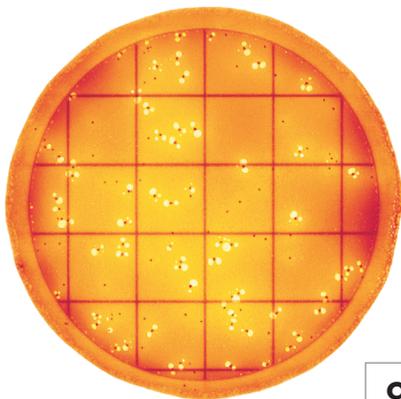
La figura 9 es otro ejemplo del recuento de colonias, con o sin burbujas de gas. El recuento depende del método que siga:

Comparado con los métodos AOAC/BAM, se confirmó la presencia de colonias coliformes con gas = 72

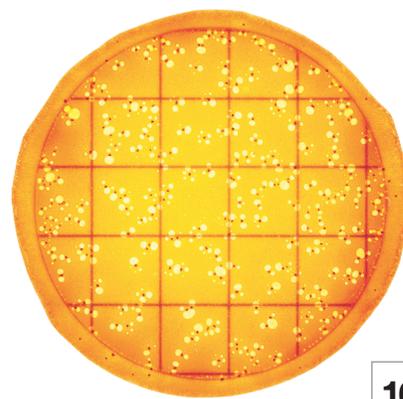
Comparado con ISO 4831, las colonias coliformes con gas son = 72

Comparado con ISO 4832, las colonias coliformes con y sin gas son = 128

Cuando el número de las colonias es de más de 150 por placa, se debe estimar el recuento. **No** se deben contar las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver figuras 7 a 10.

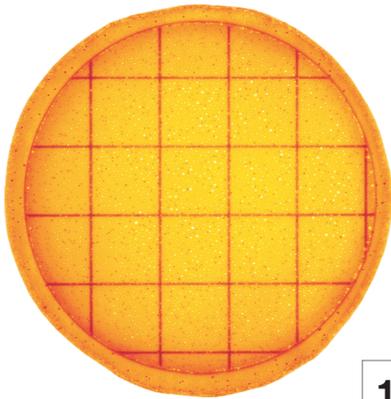


9 El recuento depende del método que se siga.



10 Recuento estimado de coliformes = 240

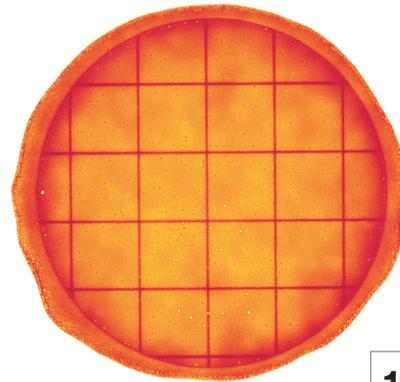
MNPC (Muy Numerosas Para Contar) >1000° colonias por placa



11

Recuento de coliformes= MNPC
Recuento actual > 10⁴

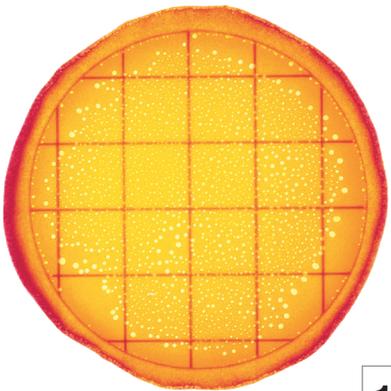
Las Placas Petrifilm RCC con colonias que son MNPC tienen una o más de las siguientes características: cambia el color del gel de naranja-rojizo a amarillo-naranja; hay muchas colonias pequeñas; hay muchas burbujas de gas. Ver la figura 11.



12

Recuento de coliformes= MNPC
Recuento actual > 10³

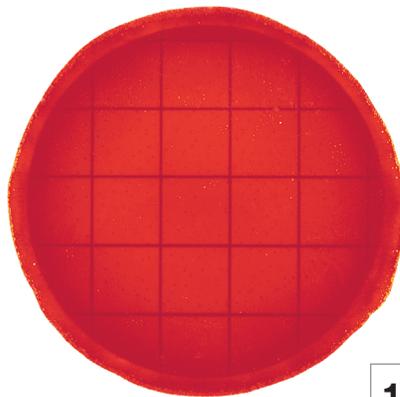
La Placa Petrifilm RCC en la figura 12 tiene dos características que indican MNPC: cambia el color del gel y hay muchas colonias pequeñas.



13

Recuento de coliformes= MNPC
Recuento actual > 10⁴

En la figura 13, el recuento es tan alto que no se presentan colonias individuales. Un cambio en el color del gel a amarillo y muchas burbujas de gas indican colonias MNPC.



14

Recuento de coliformes = 0

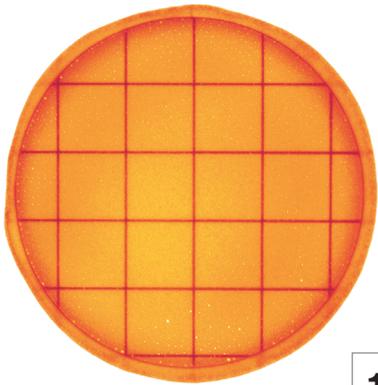
La figura 14 muestra una Placa Petrifilm RCC con un alto número de colonias no-coliformes Gram-negativas. Cuando un alto número de organismos que no fermentan la lactosa están presentes, el gel puede aparecer de color rojo oscuro.

pH

La mayoría de las bacterias muestra un óptimo crecimiento con un pH cercano a 7.0. Las diluciones de producto con pH bajo requieren un ajuste de 6.6 a 7.2 antes de inocular las placas.

Las figuras 15 y 16 son ejemplo de yogurt fresco sembrado después del ajuste de pH. Los inhibidores del medio evitan que crezca el cultivo starter Gram-positivo, pero el ácido producido por el cultivo starter puede cambiar el color base del gel de naranja-rojizo a amarillo-naranja, simulando un resultado MNPC temprano.

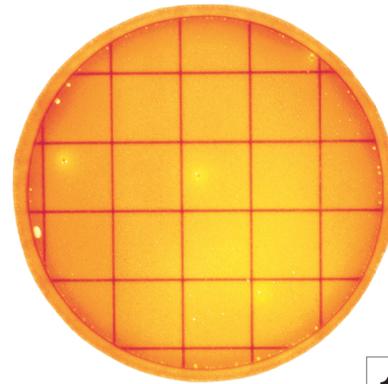
Deben inocularse placas de control con cultivo de yogurt fresco durante la incubación por si existen indicadores de crecimiento de coliformes MNPC.



15

Recuento de coliformes= 0

Compare la placa negativa de arriba con las placas MNPC de la página anterior. Observe que no hay colonias ni burbujas de gas en la figura 15 que indiquen un caso MNPC.

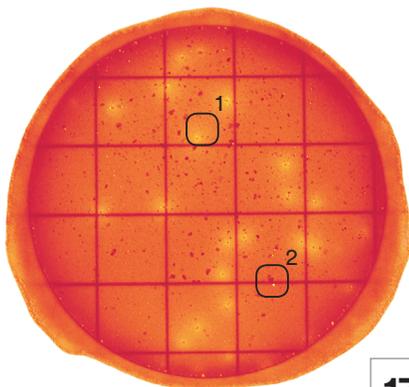


16

Recuento de coliformes= 4

A pesar del cambio del gel, el ácido producido por las colonias de coliformes se ve con facilidad, como se observa en la figura 16.

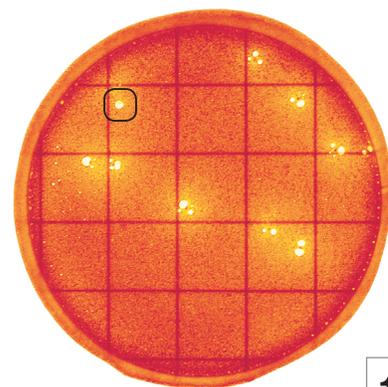
Producto. Las partículas de alimento son de forma irregulares y no se asocian con burbujas de gas.



17

Recuento de coliformes = 11

La figura 17 es una lectura anticipada de una dilución de pimienta. El círculo 1 muestra una zona ácida alrededor de una partícula de alimento. Algunos alimentos pueden contener partículas ácidas que reaccionan con el indicador de pH. El círculo 2 muestra una burbuja cercana a una partícula roja de forma irregular, pero no a una zona ácida. Ninguna debe contarse como colonia.



18

Recuento de coliformes = 10

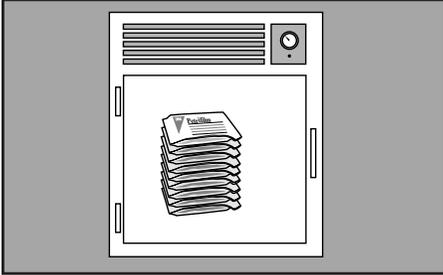
La figura 18 muestra una dilución de chocolate. Algunas zonas de ácido asociadas con colonias continúan expandiéndose en la incubación. Las burbujas de gas asociadas con colonias son otro criterio de ayuda para identificar coliformes. Las burbujas de gas pueden destacar a la colonia, como se muestra en el círculo. La enumeración, con o sin gas, depende del método.

3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Coliformes

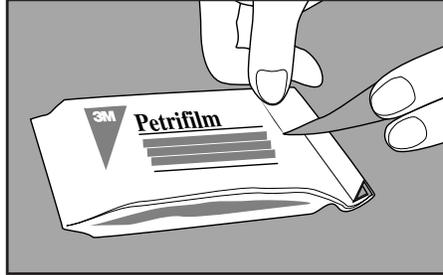
Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

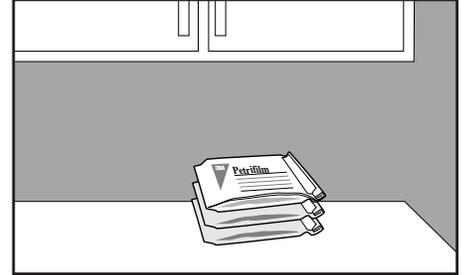
Almacenamiento



- 1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura de $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

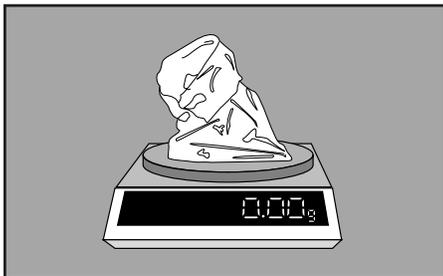


- 2 Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.

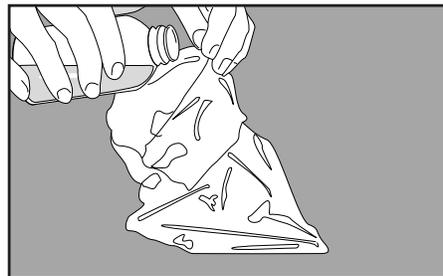


- 3 Mantenga los paquetes cerrados a una temperatura de $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ($\leq 77^{\circ}\text{F}$) y a una humedad relativa $\leq 50\%$. **No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos.** Utilice las Placas Petrifilm antes de un mes, después de abiertas.

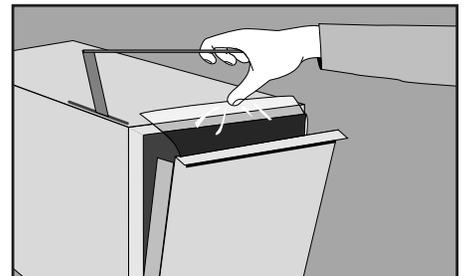
Preparación de la muestra



- 4 Leches con alto o bajo contenido de grasa pueden ser inoculadas directamente. Para otros alimentos y productos lácteos prepare una dilución 1:10 o mayor de una muestra de alimento. Pese el producto en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución, una bolsa Whirl-Pack, u otro recipiente estéril.



- 5 Agregue la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); *buffer* de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada.



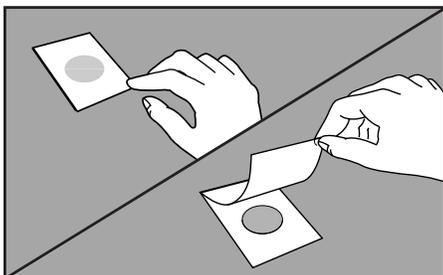
- 6 Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5

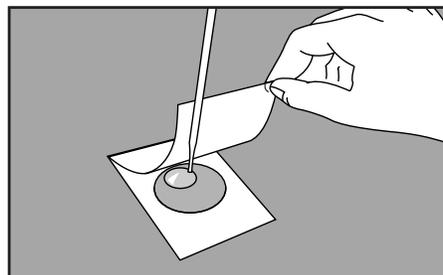
- Para productos ácidos, use 1 N de NaOH
- Para productos alcalinos, use 1 N HCl

No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

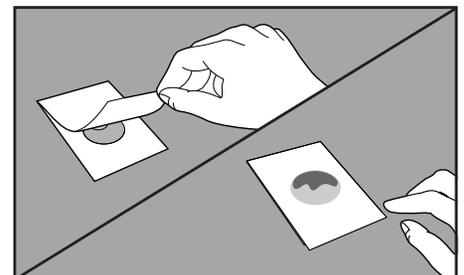
Inoculación



- 7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana. Levante la película superior.



- 8 En forma **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).



- 9 Baje la película superior dejándola caer sobre la muestra. **No** la deslice hacia abajo.